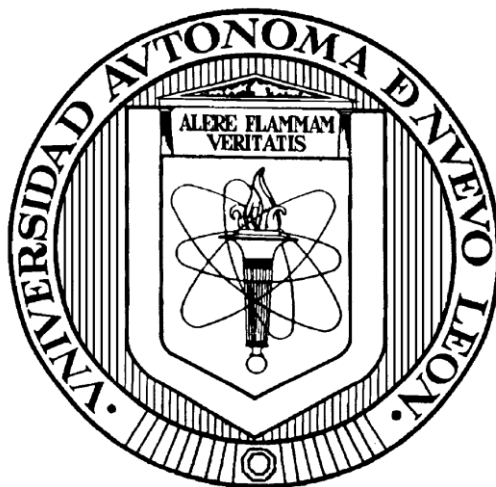


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**EVALUACIÓN DE INDICADORES DE ALERTA TEMPRANA EN
PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS**

PRESENTA

I.Q. PEDRO MISAEL ALVARADO REYNA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN PROCESOS
SUSTENTABLES**

ABRIL, 2021

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**EVALUACIÓN DE INDICADORES DE ALERTA TEMPRANA
EN PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS
No. FOLIO 02-105468.PST-19/266**

**PRESENTA
I.Q. PEDRO MISAEL ALVARADO REYNA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN PROCESOS
SUSTENTABLES**

**DIRECTOR DE TESIS
DR. PASIANO RIVAS GARCÍA**

**LABORATORIO DE DESARROLLO Y ESCALAMIENTO
DE BIOPROCESOS, No. FOLIO 02-105468.PST-19/266**

MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO

ABRIL, 2 0 2 1

Contenido

INTRODUCCIÓN	3
APORTACIÓN CIENTÍFICA	14
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	16
METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	17
REFERENCIAS	23

INTRODUCCIÓN

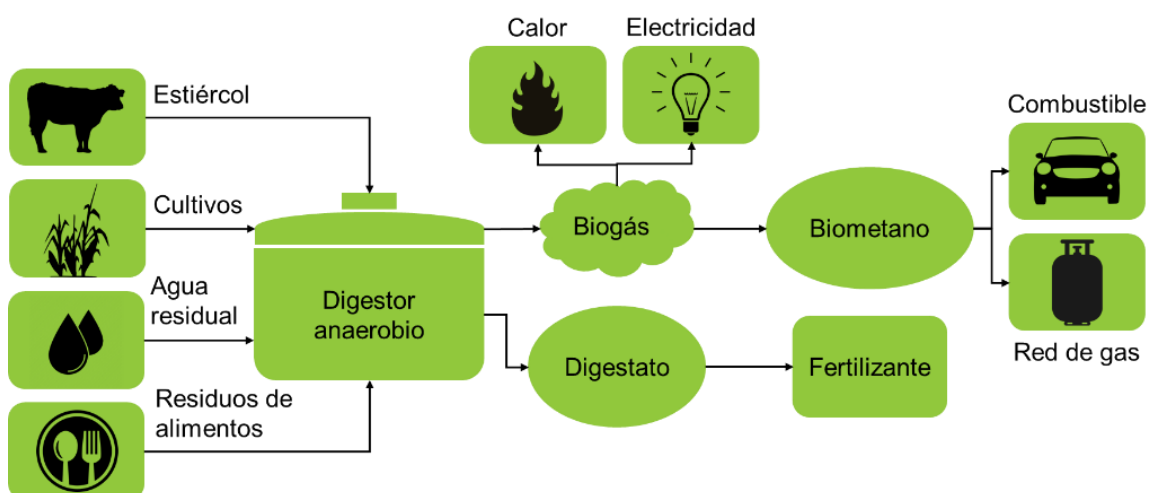
La digestión anaerobia (DA) es un proceso biológico donde la materia orgánica se degrada en ausencia de oxígeno para generar dos productos principales: biogás y el lodo estabilizado, también llamado digestato (Miramontes-Martinez et al., 2020). Como fuente de materia orgánica en DA los sustratos más empleados son residuos orgánicos (estiércol, aguas residuales, residuos agroindustriales, la fracción orgánica de los residuos procedentes de los hogares) y cultivos energéticos. El biogás contiene un alto porcentaje de metano (entre 50-75%) por lo que se puede utilizar en la generación de electricidad y calor (Ahring et al., 1995; Mata-Alvarez et al., 1992), si el metano se separa de los demás componentes del biogás (tabla 1) puede emplearse directamente en vehículos de combustión o incorporarse a la red de suministro de gas. El digestato se compone de una mezcla de materia orgánica no digerida y micro y macronutrientes (tabla 2) que puede usarse directamente como mejorador de suelo o someterse a un proceso de secado para la generación de biofertilizante (Converti et al., 1999; Simeonov, 2015). La principal materia prima y los productos de la DA se presenta de manera gráfica en la Figura 1.

Tabla 1. Composición típica (%) del biogás. (Instituto Mexicano del Petróleo, 2016)

Componente	Porcentaje del volumen total
Metano, CH ₄	50-75
Dióxido de carbono, CO ₂	25-45
Humedad, H ₂ O	2-7
Hidrógeno, H ₂	<2
Nitrógeno, N ₂	<2
Oxígeno, O ₂	<2
Sulfuro de hidrógeno, H ₂ S	<2
Monóxido de carbono, CO	<1

Tabla 2. Características fisicoquímicas de digestatos obtenidos en DA en distintas partes del mundo.

Fuente	Lugar	Sustrato	NTK	P	K	Mg	Fe	Ca	Co	Ni
			g/kg BH			mg/kg BS				
Möller, 2016	Alemania	RA	7.53	1.76	3.76	1.2	-	-	-	12.4
Banks et al., 2013	Reino Unido	FORSU	5.32	-	-	-	11.5	-	8.3	27.3
Nicholson et al., 2016	Reino unido	RA	4.67	0.61	1.96	0.07	-	0.6	-	42.5
Monlau et al., 2015	Francia	Estiércol	5.41	1.65	4.06	0.95	4.4	2.2	-	-

**Figura 1.** Principales materias primas y productos en los procesos de digestión anaerobia.

Durante los últimos años la DA ha tenido un auge en países de todo el mundo como: fuente alterna de energía y gestión de residuos orgánicos en diferentes escalas. En países desarrollados la implementación de la DA tiene como principal objetivo la generación de electricidad (Instituto Mexicano del Petróleo, 2016). La Unión Europea tiene la industria más avanzada en cuanto a DA se refiere, es líder en la generación de electricidad a partir de biogás, con el 72 % de la producción

global instalada en sus más de 17,000 digestores a gran escala (Scarlat et al., 2018). En esta región (para el caso de Alemania) la producción de biogás se basa principalmente en desechos agrícolas e industriales (Tabla 3) en digestores con especial énfasis en la instrumentación. Mientras que, en países en vías de desarrollo como la región asiática y latinoamericana se utiliza la DA a pequeña escala en digestores que basan su operación de manera manual y con una nula instrumentación. China, emplea estos digestores domésticos como método de gestión de residuos y suministro de biogás para cocinar (Vasco-Correa et al., 2018) con más de 43 millones de digestores instalados. La diferencia en instrumentación y enfoque de aplicación de la DA en los países del mundo puede verse reflejada en las diferencias de tamaño y productividad en los digestores entre los países desarrollados y en vías de desarrollo (Tabla 4).

Tabla 3. Producción de biogás en países de todo el mundo. Adapatado de Deng et al., 2014.

	Producción de biogás	Relleno sanitario (%)	Tratamiento de agua (%)	Otros (%)
EEUU	5095	75	2	23
Alemania	4213.4	6.3	9.2	84.5
China	3727.5	24	70	6
Inglaterra	1723.9	85.5	14.5	-
Francia	526.2	84	8	8

Tabla 4. Plantas de biogás alrededor del mundo.

Autor	Region	Sustrato	Co-sustrato	T °C	Reactor	Productividad
Lo et al., 2010	AL	EC		24-25	Tubular (12.3 m ³)	0.15
Ferrer et al., 2010	AL	EV		25-27	Tubular (68 m ³)	0.25
Martí-Herrero	AL	EC		15-21	Tubular (12.9 m ³)	0.525

et al., 2015						
Lindorfer et al., 2006	UE	EC	CE	39	CSTR (2000 m ³)	0.9
Lindorfer et al., 2006	UE	EC	CE	39	CSTR (2000 m ³)	1.75
De Vrieze et al., 2016	UE	CE	RR	37	CSTR (3000 m ³)	2.34
<hr/> EC=estiércol de cerdo; EV=estiércol de vaca; CE=cultivos energéticos; RR=residuos de rastro AL=América Latina; UE=Unión Europea						

La operación continua de digestores anaerobios sufre periodos, que pueden alargarse semanas o incluso meses, donde la degradación de materia orgánica y la producción de bioenergía se ven limitadas. Esto último debido a un fenómeno conocido como inestabilidad, que en DA se entiende como la incapacidad de amortiguar los movimientos efectuados por perturbaciones externas al sistema de bioprocesos (S. Liu, 2017). Los periodos de inestabilidad pueden tener graves consecuencias económicas derivadas de un largo tiempo de inactividad o un alto costo de reparación. Estudios en digestores europeos a gran escala muestran que el rendimiento de metano en una planta de biogás danesa disminuyó en un 70 % durante varios meses por una perturbación en la alimentación (Nielsen & Angelidaki, 2008). En otro caso, el rendimiento de metano en un digestor a gran escala se redujo en un 80 % por alrededor de 6 semanas tras accidentalmente introducir tolueno en el influente (Kleyböcker et al., 2012). Para un digestor alemán a gran escala, una disminución de 30 % en el rendimiento de metano trae consigo pérdidas anuales por más de 0.1 millones de dólares (Balussou et al., 2012).

Nielsen y Angelidaki, (2008) señalan que a nivel industrial los principales factores que propician la inestabilidad son el desconocimiento de la composición de los influentes a tratar y la nula vigilancia en la producción de intermediarios metabólicos en el proceso. Para mitigar la inestabilidad y mejorar el estado de la DA es crucial conocer el estado metabólico de los digestores, tarea que puede lograrse a través de métodos de monitoreo y control (Boe et al., 2010).

El fin del monitoreo en la DA es lograr la estabilidad del proceso y maximizar la productividad de metano (Ren et al., 2018). Los digestores pueden mantener producciones estables si se mantienen variaciones mínimas en la calidad del sustrato que se alimenta y se opera a tasas de carga orgánica subóptimas (de 1-4 gSV L⁻¹ d⁻¹) como una medida de precaución (Kleyböcker et al., 2014), lo que resulta en digestores sobredimensionados con bajos rendimientos de biogás y altos costos operativos. Para contrarrestar la baja productividad es común aumentar paulatinamente la TCO. Pero si se alcanzan valores de TCO relativamente altos es indispensable monitorear el proceso entero, lo que involucra la obtención en tiempo real de información característica del digestor con el fin de tomar decisiones operativas a tiempo, sin que la productividad caiga y el sistema se vuelva inestable (Charnier et al., 2018). Desarrollar un sistema de monitoreo requiere de parámetros que brinden información valiosa sobre el estado metabólico del digestor y de dispositivos o técnicas de medición de estos parámetros.

Desde la década de 1940 se estudian los parámetros óptimos para monitorear el proceso de DA. Idealmente se busca que los parámetros tengan una alta sensibilidad y una respuesta rápida a los signos de inestabilidad en el proceso

de DA. Con estas características en mente se establecieron los indicadores de alerta temprana (IAT) que adicionalmente buscan ser económica y tecnológicamente viables. Existen en la literatura dos grandes categorías de IAT para detectar los síntomas de inestabilidad que revisaremos a continuación.

Indicadores biológicos

Las comunidades microbianas en la DA son sensibles a perturbaciones externas al sistema de bioprocesos (L. Li et al., 2018). Estos cambios tienen un efecto en la actividad y composición de las comunidades, que están estrechamente ligadas con la estabilidad del proceso. Se ha descubierto que cuando las fluctuaciones en el proceso son pequeñas, el consorcio microbiano mantiene su funcionamiento a través de 3 mecanismos: resistencia (los microorganismos toleran los cambios y mantienen su composición), resiliencia (el consorcio retorna a la situación previa a la perturbación) y redundancia (un grupo distinto con la misma función reemplaza al consorcio ante una perturbación) (Allison & Martiny, 2008). Estudiar el comportamiento y sucesión de los grupos de microorganismos a través de estos mecanismos juega un rol importante para entender el estado de la DA. Se han propuesto dos tipos de indicadores biológicos de alerta temprana: los parámetros ecológicos y los microorganismos indicativos.

Parámetros ecológicos

La riqueza, la uniformidad y la dinámica son de los parámetros más usados para describir el estado del sistema de bioprocesos. Estos 3 responden a las preguntas de “quién está allí”, “quién está haciendo qué con quién” y “cómo se

comportan contra las perturbaciones”. La riqueza es importante por dos motivos, un consorcio rico tiene más opciones de rutas de degradación y aumenta la posibilidad de adaptarse a una perturbación (Carballa et al., 2015; Regueiro et al., 2014). La uniformidad es una medida de la distribución de la abundancia. Una mayor uniformidad representa una distribución entre las especies dominantes y dispersas que lleva a distintas rutas metabólicas. Mientras que una uniformidad baja indica que la comunidad es dominada por una o pocas especies, lo que representa una baja resistencia ante las perturbaciones (Kinet et al., 2015; Wittebolle et al., 2009). La dinámica evalúa la habilidad de las comunidades microbianas de adaptarse a condiciones de estrés (De Vrieze et al., 2016).

Microorganismos indicativos

Algunos estudios han investigado el comportamiento de las comunidades microbianas ante una perturbación en la operación de un digestor anaerobio para seleccionar los microorganismos relacionados al estado del bioproceso. Se observó una disminución en la población metanogénica ante el incremento de AGV en un digestor anaerobio a escala industrial alimentado con residuos de comida (Williams et al., 2013). Estos resultados sugieren que monitorear las poblaciones de microorganismos dentro de los digestores brindan información valiosa sobre el estado del proceso. Li et al., (2016) encontró dos grupos resilientes (*Syntrophomonas* y *Treponema*) ante un aumento en la TCO al digestor. Ambos grupos aumentaron durante la etapa de inestabilidad y regresaron a su estado anterior luego de la perturbación, lo que sugiere su uso potencial como Indicadores de alerta temprana.

A pesar de que los Indicadores biológicos se enfocan en entender el comportamiento de las comunidades microbianas y las interacciones de sintrofia, competencia y depredación entre sus grupos, su aplicación a nivel industrial está lejos de ser una realidad. En general, las técnicas que se aplican para estudiar a las comunidades microbianas en sistemas anaerobios requieren mucho tiempo, tienen un rendimiento relativamente bajo y solo pueden detectar microbios dominantes.

Indicadores fisicoquímicos

Los IAT fisicoquímicos son una medida de los intermediarios o productos finales metabólicos de la DA, que a menudo pueden determinarse a través de técnicas de titulación o cromatográficas in situ. A pesar de que las fluctuaciones en los valores de los IAT fisicoquímicos son el resultado y no el origen de la inestabilidad, el monitoreo de estos indicadores se vuelve una tarea más rutinaria en los digestores a nivel industrial. Los valores umbral para el límite de la estabilidad de estos indicadores de alerta temprana también se han investigado extensamente y se han propuesto varias condiciones de funcionamiento normales basadas en esta información (L. Li et al., 2018).

Por ejemplo, la tasa entre alcalinidad intermedia y parcial (AI/AP), trata de representar de manera simultánea dos fenómenos importantes en la DA: la generación de ácidos orgánicos y la capacidad buffer del medio en un mismo indicador. Para la AI/AP se sugiere una tasa de 1.44 para evitar una operación inestable en reactores mesofílicos que utilizan estiércol como mono-sustrato (E. L. Pereira et al., 2013); sin embargo, se propone una AI/AP de 0.44 para asegurar un

rendimiento alto del reactor con este mismo sustrato (Santana & Oliveira, 2005); además, se propone una AI/AP de 0.9 para un reactor termofílico cuando se tratan lodos residuales (Ferrer et al., 2010); y se recomienda una AI/AP por debajo de 0.23 al tratar lodos residuales en régimen mesofílico (Fernandes & De Oliveira, 2006). Aunque se han realizado muchas investigaciones sobre éste y otros IAT, hasta el momento no hay un consenso de qué valor utilizar que sea de aplicación universal para predecir inestabilidad en el proceso (Hagos et al., 2017).

Se han encontrado una gran variedad de valores umbral para un mismo indicador (Tabla 4) algunos estudios con resultados contradictorios. Aunque se han realizado muchas investigaciones sobre éste y otros IAT, hasta el momento no hay un consenso de qué valor utilizar que sea de aplicación universal para predecir inestabilidad en el proceso

Tabla 4 Resumen de indicadores de alerta temprana de experimentos de digestión anaerobia llevados a cabo en las últimas décadas

Sustrato	Configuración del reactor	Condiciones de operación	Indicadores propuestos	Límite de estabilidad	Referencia
Celulosa; glucosa	Lote	35 ° C	AGV	<6000 mgL ⁻¹	Siegert et al., (2005)
RA; estiércol; LR	ND	ND	AGV	<4000 mgL ⁻¹	Lee et al., (2015)
Estiércol	UFAF	ND	AGV	<200 mgL ⁻¹	Santana et al., (2005)
Estiércol	UFAF	22.5 ° C	AGV	<100 mgL ⁻¹	Pereira et al., (2013)
Estiércol	UFAF	21 ° C	AGV	<150 mgL ⁻¹	E. Pereira et al., (2009)
Suero de queso; Estiércol	PFR	26 ° C	AGV	<5000 mgL ⁻¹	Escalante-Hernández et al., (2017)
RAg; Estiércol	CSTR	54 ° C	AGV	<1500 mgL ⁻¹	Søndergaard et al., (2015)
LR	CSTR	55 ° C	AGV	<2500 mgL ⁻¹	Ferrer et al., (2010)
FORSU	CSTR	37 ° C	AGV	<2500 mgL ⁻¹	Martín-González et al., (2013)
Estiércol	CSTR	35 ° C	AGV	<6000 mgL ⁻¹	Li (2013)
FORSU	CSTR	-	AGV/AT	0.1-0.4	Zahedi et al., (2019)
RA; RJ	Lote	-	AGV/AT	0.4-0.6	Brown & Li, (2013)
RR; RF; RJ	CSTR	37 ° C	AGV/AT	<0.5	Korai, et al., (2018)
RA; FORSU	CSTR	55 ° C	AGV/AT	<0.07	Ghanimeh et al., (2012)
Suero de queso; Estiércol	PFR	26 ° C	AGV/AT	<0.4	Escalante-Hernández et al., (2017)
RA	Lote	ND	AGV/AT	0.3-0.4	Kong et al., (2016)
Estiércol	CTR	23 ° C	AGV/AT	<0.6	Castro et al., (2017)
RC	Lote	39 ° C	AGV/AT	<0.63	Pilarska et al., (2019)
RR	Lote	35 ° C	AGV/AT	<0.5	Slimane et al., (2014)
Glucosa	CSTR	37 ° C	AGV/AT	<0.15	Pontoni et al., (2015)
RA	Lote	ND	AGV/AT	<0.9	L. H. Wang et al., (2012)
LR	UASB	30-35 ° C	AGV/AT	<0.3-0.4	Sánchez et al., (2005)
Estiércol; RFV; Purín	CSTR	35 ° C	AGV/AT	<0.4	Callaghan et al., (2002)
Estiércol: RF	PFR	31 ° C	AGV/AT	<0.08	Lane, (1984)
RA; FORSU	CSTR	55 ° C	HPr	<488 mgL ⁻¹	Ghanimeh et al., (2012)
HAc; HPr; HBt; HEt	Lote	35 ° C	HPr	<900 mgL ⁻¹	Wang et al., (2009)
Estiércol	ND	26-30 ° C	HPr	<5000 mgL ⁻¹	Yeole et al., (1996)
Estiércol	CSTR	55 ° C	HPr	<3000 mgL ⁻¹	Ahring et al., (1995)
LR	AnMBr	55 ° C	HPr	<2000 mgL ⁻¹	Wijekoon et al., (2011)
HAc; HPr; HBt	UFAF	20 ° C	HPr	<312 mgL ⁻¹	Demirel et al., (2002)
Estiércol	Lote	38 ° C	HPr	<1000 mgL ⁻¹	Hobson & Shaw, (1976)
Glucosa	CSTR	35 ° C	HPr	<2750 mgL ⁻¹	Pullammanappallil et al., (2001)
Estiércol	CSTR	35 ° C	HPr	<1500 mgL ⁻¹	Holm t al., (2015)
HAc; HPr; HBt	FBR	37 ° C	HAc	<200 mgL ⁻¹	Gorris et al., (1989)
LR	CSTR	33 ° C	HAc	<4700 mgL ⁻¹	Kaspar & Wuhrmann, (1977)
Estiércol	CSTR	35 ° C	HAc	<800 mgL ⁻¹	Hill & Bolte, (1987)
Estiércol	CSTR	55 ° C	HAc	<6000 mgL ⁻¹	Ahring et al., (1995)
RA; FORSU	CSTR	55 ° C	HAc	<825 mgL ⁻¹	Ghanimeh et al., (2012)
LR	CSTR	55 ° C	HAc	<600 mgL ⁻¹	Ferrer et al., (2010)
Glucosa	CSTR	55 ° C	HPr/HAc		Marchaim et al., (1993)
Estiércol	CSTR	35 ° C	HPr/HAc	<1.4	Hill & Bolte, (1987)

LR	CSTR	55 ° C	HPr/HAc	<0.5	Ferrer et al., (2010)
RA	Lote	ND	HPr/HAc	<0.08	L. H. Wang et al., (2012)
			Alk		
RA; FORSU	CSTR	55 ° C	Al/AP	<0.45	Ghanimeh et al., (2012)
Estiércol	UFAF	22.5 ° C	Al/AP	<1.44	Pereira et al., (2013)
Estiércol	UFAF	ND	Al/AP	<0.47	Santana et al., (2005)
LR	UFAF	21 ° C	Al/AP	<0.23	Fernandes et al., (2006)
Estiércol	UFAF	24 ° C	Al/AP	<0.41	Pererira et al., (2009)
Estiércol	Lote	35 ° C	Al/AP	<0.3	Ripley et al., (1986)
FORSU	CSTR	37 ° C	Al/AP	<0.3	Martín-González et al., (2013)
Estiércol	UFAF	21 ° C	Al/AP	<0.85	E. Pereira et al., (2009)
FORSU	CSTR	37 ° C	Al/AP	<0.72	Ferrer (2012)
LR	CSTR	55 ° C	Al/AP	<0.9	Ferrer et al., (2010)
RA	UFAF	30 ° C	Al/AP	<0.4	Balaguer et al., (1992)
Estiércol; glicerol	CSTR	35 ° C	Al/AP	<0.4	Astals et al., (2012)
RV	CSTR	55 ° C	CH ₄ /CO ₂	<0.2	D. Li et al., (2018)
			AB/AT	<0.8	
RFV; LR	CSTR	35 ° C	Al/AT	<0.4	Arhoun et al., (2019)

Sustrato: **FORSU**=fracción orgánica de residuos sólidos urbanos; **RA**=residuos de alimentos; **RJ**=residuos de jardín; **RV**=residuos de vegetales; **RF**=residuos de frutas; **RFV**=residuos de frutas y vegetales; **LR**=lodos residuales; **RR**=residuos de rastro; **RAg**=residuos agrícolas; **RC**=residuos de confitería; **HPr**=ácido propiónico; **HAc**=ácido acético; **HBt**=ácido butírico; **HEt**= etanol

Configuración del reactor: **CSTR**=reactor continuo de tanque agitado; **CTR**=reactor tubular continuo; **AnMBR**=biorreactor anaerobio de membrana; **UFAF**=filtro anaerobio de flujo ascendente; **FBR**=reactor de lecho fluidizado; **PFR**=reactor de flujo pistón; **UASB**=reactor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodos

Indicadores: **AGV**=ácidos grasos volátiles; **Al**=alcalinidad intermedia; **AP**=alcalinidad parcial; **AT**=alcalinidad total; **HPr**=ácido propiónico; **HAc**=ácido acético

APORTACIÓN CIENTÍFICA

En la comunidad científica no se ha realizado un trabajo donde se evalúe la capacidad predictiva de los IAT más usados en el monitoreo de la estabilidad en los procesos de producción de biogás. Por lo tanto, la aportación científica de este proyecto es la evaluación de la capacidad de los IAT para detección temprana de fallas en los procesos de producción de biogás como estrategia de generación de energía limpia y tratamiento de residuos. Esta evaluación estará fundamentada en el estudio profundo de los procesos de DA, el cual generará conocimiento en el área de control y monitoreo de producción de biogás.

HIPÓTESIS

La efectividad de la capacidad predictiva de los IAT para detección oportuna de fallas, se evaluará a través de la inducción programada de falla en un proceso de producción de biogás en estado estacionario.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la efectividad de la capacidad predictiva de diversos indicadores de alerta temprana en proceso de producción de biogás.

Objetivos específicos

- Seleccionar los IAT en procesos de producción de biogás sujetos a estudio.
- Plantear y ejecutar las pruebas experimentales de inducción de fallas programadas en proceso de producción de biogás en estado estacionario.
- Evaluar la capacidad predictiva de los IAT para la detección oportuna de fallas en la producción de biogás.

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Materiales y métodos

Sustrato

Para evitar la variación en la composición con respecto al tiempo que presentan algunos residuos orgánicos, se empleó el sustrato sintético de Astals (2014). El sustrato incluye celulosa Sigma-Aldrich®, caseína Bacto® de grado analítico y aceite de oliva extra virgen marca Hacienda Guzmán como fuentes de carbohidratos, proteínas y lípidos, respectivamente. Se agregó una solución inorgánica como fuente de micro y macronutrientes; la formulación se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Concentración de macro y micronutrientes de la solución inorgánica.

Nutriente	Concentración (mgL ⁻¹)
NH ₄ Cl	1500
KH ₂ PO ₄	300
FeCl ₃ ·6H ₂ O	5
NiSO ₄ ·6H ₂ O	0.447
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.037
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.4

Inóculo

Se utilizó como inóculo el lodo del fondo de un digestor anaerobio tipo CSTR que trata efluentes líquidos de una industria de producción de chocolate en el municipio de Montemorelos, Nuevo León. El Inóculo fresco se transportó al

laboratorio en recipientes de polietileno de 20 L y durante 48 semanas se mantuvo a temperatura ambiente (24 °C) y bajo sello para minimizar la intrusión de oxígeno. Se cuantificó la capacidad de producción de metano de los microorganismos presentes en el inóculo a través de la metodología descrita por (Hussain & Dubey, 2017).

Sistema de reacción

El proceso de digestión anaerobia se llevó a cabo en dos reactores marca Aplikkon® de vidrio de borosilicato de 6.5 (reactor 1) y 3 L (reactor 2). Cada reactor cuenta con una brida de acero inoxidable en la parte superior, sellada con un empaque de caucho, donde se encuentran los puertos de alimentación, salida efluentes líquidos y salida de gases. La salida de gases cuenta con un condensador a contraflujo refrigerado por agua a 8 °C, para reducir la pérdida de humedad en el reactor. El agua del condensador se enfría a través de un baño de temperatura marca Scorpion® con bomba de recirculación. La salida de gases del condensador está conectada a una bolsa marca Tedlar® con capacidad de 5 L para el almacenamiento del efluente gaseoso. Cada reactor está conectado a una interfaz de control de temperatura y agitación, así como un sensor de monitoreo de pH. La temperatura se mantiene en régimen isotérmico a través de una mantilla de calentamiento marca Aplikkon®. La agitación motorizada se proporciona en la parte superior con hélices Rushton (60 mm de diámetro). En la figura X se muestra un diagrama completo del sistema de reacción.

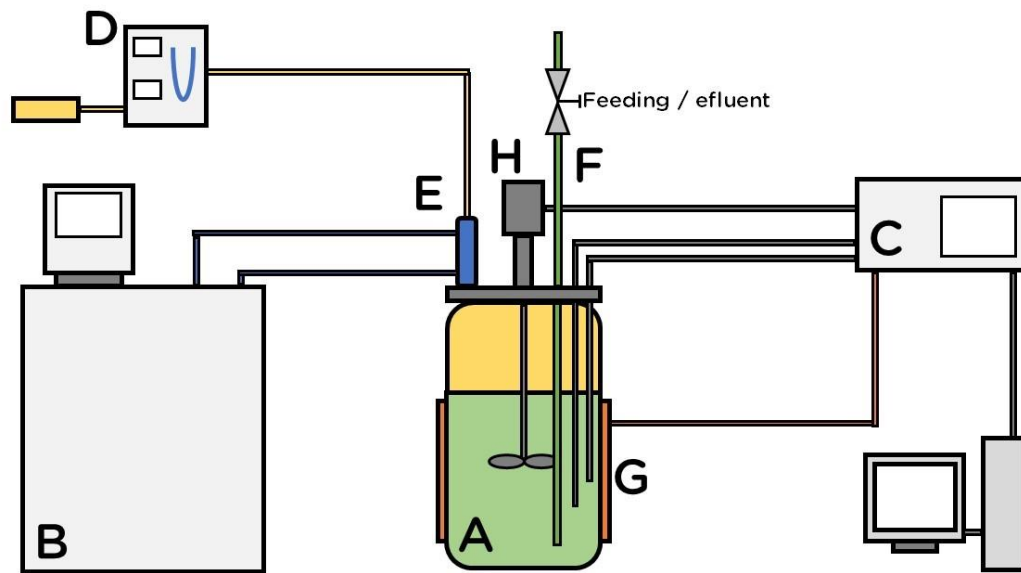


Figura 1. Sistema de reacción. A= Reactor anaerobio; B= baño de temperatura con bomba de recirculación; C= Interfaz de control y monitoreo; D= sistema de captura de biogás; F= puerto de extracción y alimentación; G= mantilla de calentamiento; H= sistema de agitación.

Operación del sistema de reacción

La operación del sistema de reacción está dividida en 3 etapas: incubación (6 d), llegada al estado estacionario (39 d) y perturbación (30 d). Se detallan enseguida las particularidades de cada etapa.

Incubación

Se cargaron los dos reactores a un 60% de su volumen total con inóculo. Se burbujeó nitrógeno grado industrial durante 5 minutos para promover condiciones anaerobias. Para aclimatar a los microorganismos y eliminar la materia orgánica residual de origen del inóculo, ambos reactores se incubaron durante 6 días a una

temperatura de 35 °C y velocidad de agitación de 200 rpm. El biogás generado durante esta etapa se almacenó en una bolsa Tedlar de 5L.

Llegada al estado estacionario

Se mantuvieron las mismas condiciones de temperatura y agitación que en la etapa de incubación. Ambos reactores se alimentaron durante 39 d en un régimen semicontinuo bajo la siguiente estrategia: 2 partes (en volumen) de sustrato sintético a una proporción (base seca) 17% carbohidratos, 17% proteínas y 64% lípidos se mezclaron con 1 parte de digestato recirculado. La alimentación al reactor se preparó diariamente y se mantuvieron constantes el tiempo de retención hidráulico (TRH) y la tasa de carga orgánica (TCO) de ambos reactores en 21 d y 3 g SV L⁻¹ d⁻¹, respectivamente. Las muestras de digestato sobrante se almacenaron en recipientes de PET a una temperatura de -4°C hasta su posterior análisis. El volumen de biogás recolectado diariamente en las bolsas Tedlar® se midió a través de una jeringa para gases de 500 mL marca Hamilton® y se almacenaron muestras en botellas serológicas de 120 mL selladas con tapón de caucho butílico, a las que se les inyectó vacío.

Perturbación

Luego de alcanzar el estado estacionario en la etapa anterior, se hizo una perturbación en la alimentación a los reactores al retirar paulatinamente la fuente de nitrógeno en el sustrato sintético. Se disminuyó un 10% diario el contenido de proteína en el sustrato sintético que se alimentó en la etapa anterior y se compensó la disminución con un aumento proporcional del contenido de carbohidratos y lípidos

hasta obtener un sustrato sintético con una proporción (base seca) 20% carbohidratos y 80% lípidos. Se mantuvieron las mismas condiciones de TRH y TCO que en la etapa de estado estacionario. La alimentación se mantuvo hasta que la producción diaria de biogás fue nula.

Métodos analíticos

Determinaciones fisicoquímicas

El inóculo introducido en el reactor se caracterizó mediante pruebas fisicoquímicas estándar, tales como: perfil de sólidos (NMX-AA-034-SCFI-2001), grasa cruda (NMX-AA-005-SCFI-2013), nitrógeno total kjedahl (NMX-F-068-1980), proteína (NMX-F-068-1980), carbohidratos totales (calculados como los sólidos volátiles menos la cantidad de proteína y grasa cruda), ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad (NMX-AA-036-SCFI-2001). Las muestras diarias de digestato extraídas del reactor se almacenaron a 4 ° C en contenedores de PET sellados, hasta su caracterización mediante perfil de sólidos, AGV y alcalinidad, grasa cruda, proteína y carbohidratos totales.

Determinaciones cromatográficas

La fracción de metano se analizó a través de un cromatógrafo de gases Shimatzu® equipado con un detector de ionización de flama. El programa del horno del cromatógrafo fue el siguiente: mantener la temperatura del horno a 40 °C por 1.5 min, luego incrementar a razón de 40 °C/min hasta 200 °C. Se usó N₂ como gas acarreador y una mezcla de H₂ y aire para la ignición. Las temperaturas del detector

y del inyector fueron programadas a 280 y 250 °C, respectivamente. La relación de split de la muestra de gas en la cámara de entrada fue de 100:1. Se realizaron tres corridas utilizando estándar de CH₄, con el fin de obtener la función de calibración.

Métodos estadísticos

Se definió como estado estacionario del reactor cuando la producción diaria de biogás estaba dentro del 10% de variación, durante al menos 6 días consecutivos (De Francisci et al., 2015). El día de falla del proceso se determinó cuando sucedió al menos uno de dos eventos: la reducción del pH del reactor a menos de 6.4 (Y. Liu & Whitman, 2008) o una disminución significativa ($RSD > 20\%$) en el rendimiento de CH₄. Las desviaciones estándar relativas (RSD) se calcularon de acuerdo con la ecuación siguiente, para una evaluación cuantitativa de las fluctuaciones en los valores de los indicadores diarios en comparación con el día anterior.

$$RSD = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^2 (x_i - \bar{x})^2}}{\bar{x}} \times 100\%$$

En la ecuación anterior, S es la desviación estándar del valor del indicador medido en comparación con el día anterior, y \bar{x} es el promedio de los valores en el día i e $i-1$. Cuanto mayor sea el valor de RSD, mayor será la fluctuación. El día en que la RSD excede el 20% se determinó como el momento en el que se produjeron cambios repentinos.

REFERENCIAS

- Ahring, B. K., Sandberg, M., & Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(3), 559–565. <https://doi.org/10.1007/BF00218466>
- Allison, S. D., & Martiny, J. B. H. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(SUPPL. 1), 11512–11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
- Arhoun, B., Villen-Guzman, M., Gomez-Lahoz, C., Rodriguez-Maroto, J. M., Garcia-Herruzo, F., & Vereda-Alonso, C. (2019). Anaerobic co-digestion of mixed sewage sludge and fruits and vegetable wholesale market waste: Composition and seasonality effect. *Journal of Water Process Engineering*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100848>
- Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., & Mata-Alvarez, J. (2012). Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresource Technology*, 110, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.080>
- Balaguer, M. D., Cassú, C., Vicent, T., & París, J. M. (1992). Start-up of an UASB reactor treating potato-starch wastewater using an alkalimetric follow-up procedure. *Biomass and Bioenergy*, 3(6), 389–392. [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(92\)90034-N](https://doi.org/10.1016/0961-9534(92)90034-N)

- Balussou, D., Kleyböcker, A., McKenna, R., Möst, D., & Fichtner, W. (2012). An economic analysis of three operational co-digestion biogas plants in Germany. *Waste and Biomass Valorization*, 3(1), 23–41. <https://doi.org/10.1007/s12649-011-9094-2>
- Banks, C., Heaven, S., & Sapp, M. (2013). *Review of the application of the Residual Biogas Potential test*. www.wrap.org.uk
- Boe, K., Batstone, D. J., Steyer, J.-P., & Angelidaki, I. (2010). State indicators for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Research*, 44(20), 5973–5980. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2010.07.043>
- Brown, D., & Li, Y. (2013). Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. *Bioresource Technology*, 127, 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.081>
- Callaghan, F. J., Wase, D. A. J., Thayanithy, K., & Forster, C. F. (2002). Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy*, 22(1), 71–77. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(01\)00057-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(01)00057-5)
- Carballa, M., Regueiro, L., & Lema, J. M. (2015). Microbial management of anaerobic digestion: Exploiting the microbiome-functionality nexus. En *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 33, pp. 103–111). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.01.008>
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., &

- Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.035>
- Charnier, C., Latrille, E., Roger, J.-M., Miroux, J., & Steyer, J.-P. (2018). Near-Infrared Spectrum Analysis to Determine Relationships between Biochemical Composition and Anaerobic Digestion Performances. *Chemical Engineering & Technology*, 41(4), 727–738. <https://doi.org/10.1002/ceat.201700581>
- Converti, A., Del Borghi, A., Zilli, M., Arni, S., & Del Borghi, M. (1999). Anaerobic digestion of the vegetable fraction of municipal refuses: Mesophilic versus thermophilic conditions. *Bioprocess Engineering*, 21(4), 371–376. <https://doi.org/10.1007/s004490050689>
- De Francisci, D., Kougias, P. G., Treu, L., Campanaro, S., & Angelidaki, I. (2015). Microbial diversity and dynamicity of biogas reactors due to radical changes of feedstock composition. *Bioresource Technology*, 176, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.126>
- De Vrieze, J., Raport, L., Roume, H., Vilchez-Vargas, R., Jáuregui, R., Pieper, D. H., & Boon, N. (2016). The full-scale anaerobic digestion microbiome is represented by specific marker populations. *Water Research*, 104, 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.008>
- Demirel, B., & Yenigün, O. (2002). The effects of change in volatile fatty acid (vfa) composition on methanogenic upflow filter reactor (ufaf) performance.

Environmental Technology (United Kingdom), 23(10), 1179–1187.

<https://doi.org/10.1080/09593332308618336>

Deng, Y., Xu, J., Liu, Y., & Mancl, K. (2014). Biogas as a sustainable energy source in China: Regional development strategy application and decision making. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 294–303.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.031>

Escalante-Hernández, H., Castro-Molano, L. D. P., Besson, V., & Jaimes-Estévez, J. (2017). Feasibility of the anaerobic digestion of cheese whey in a Plug Flow Reactor (PFR) under local conditions. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 18(3), 264–277. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2017.18n3.024>

Fernandes, G. F. R., & De Oliveira, R. A. (2006). Desempenho de processo anaeróbico em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para tratamento de águas residuárias de suinocultura. *Engenharia Agrícola*, 26(1), 243–256. <https://doi.org/10.1590/s0100-69162006000100027>

Ferrer, I., Vázquez, F., & Font, X. (2010). Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. *Bioresource Technology*, 101(9), 2972–2980.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.006>

Ghanimeh, S., El Fadel, M., & Saikaly, P. (2012). Mixing effect on thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 117, 63–71.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.125>

Gorris, L. G. M., van Deursen, J. M. A., van der Drift, C., & Vogels, G. D. (1989).

Inhibition of propionate degradation by acetate in methanogenic fluidized bed reactors. *Biotechnology Letters*, 11(1), 61–66.

<https://doi.org/10.1007/BF01026788>

Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., & Lu, X. (2017). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 1485–1496.

<https://doi.org/10.1016/J.RSER.2016.11.184>

Hill, D. T., & Bolte, J. P. (1987). Using Volatile Fatty Acid Relationships to Predict Anaerobic Digester Failure. *Transactions of the ASAE*, 30(2), 0502–0508.

<https://doi.org/10.13031/2013.31978>

Hobson, P. N., & Shaw, B. G. (1976). Inhibition of methane production by *Methanobacterium formicicum*. *Water Research*, 10(10), 849–852.

[https://doi.org/10.1016/0043-1354\(76\)90018-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(76)90018-X)

Hussain, A., & Dubey, S. K. (2017). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science*, 7(2), 535–542.

<https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>

Instituto Mexicano del Petróleo. (2016). *Reporte de inteligencia tecnológica: Combustibles gaseosos*.

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/329908/Reporte_Inteligencia

Kaspar, H. F., & Wuhrmann, K. (1977). Product inhibition in sludge digestion.

Microbial Ecology, 4, 241–248.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02015080>

Kinet, R., Destain, J., Hiligsmann, S., Thonart, P., Delhalle, L., Taminiau, B.,

Daube, G., & Delvigne, F. (2015). Thermophilic and cellulolytic consortium

isolated from composting plants improves anaerobic digestion of cellulosic

biomass: Toward a microbial resource management approach. *Bioresource*

Technology, 189, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.010>

Kleyböcker, A., Liebrich, M., Kasina, M., Kraume, M., Wittmaier, M., &

Würdemann, H. (2012). Comparison of different procedures to stabilize biogas

formation after process failure in a thermophilic waste digestion system:

Influence of aggregate formation on process stability. *Waste Management*,

32(6), 1122–1130. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.01.015>

Kleyböcker, A., Lienen, T., Liebrich, M., Kasina, M., Kraume, M., & Würdemann, H.

(2014). Application of an early warning indicator and CaO to maximize the

time–space–yield of an completely mixed waste digester using rape seed oil as

co-substrate. *Waste Management*, 34(3), 661–668.

<https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2013.11.011>

Kong, X., Wei, Y., Xu, S., Liu, J., Li, H., Liu, Y., & Yu, S. (2016). Inhibiting

excessive acidification using zero-valent iron in anaerobic digestion of food

waste at high organic load rates. *Bioresource Technology*, 211, 65–71.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.078>

Korai, M. S., Mahar, R. B., & Uqaili, M. A. (2018). The seasonal evolution of fruit, vegetable and yard wastes by mono, co and tri-digestion at Hyderabad, Sindh Pakistan. *Waste Management*, 71, 461–473.

<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.038>

Lane, A. G. (1984). Anaerobic digestion of solid fruit waste supplemented with poultry manure in a horizontal plug-flow reactor. *Environmental Technology Letters*, 5(1–11), 465–470. <https://doi.org/10.1080/09593338409384300>

Lee, D.-J., Lee, S.-Y., Bae, J.-S., Kang, J.-G., Kim, K.-H., Rhee, S.-S., Park, J.-H., Cho, J.-S., Chung, J., & Seo, D.-C. (2015). *Effect of Volatile Fatty Acid Concentration on Anaerobic Degradation Rate from Field Anaerobic Digestion Facilities Treating Food Waste Leachate in South Korea*.

<https://doi.org/10.1155/2015/640717>

Li, D., Ran, Y., Chen, L., Cao, Q., Li, Z., & Liu, X. (2018). Instability diagnosis and syntrophic acetate oxidation during thermophilic digestion of vegetable waste. *Water Research*, 139, 263–271.

<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2018.04.019>

Li, L., He, Q., Ma, Y., Wang, X., & Peng, X. (2016). A mesophilic anaerobic digester for treating food waste: Process stability and microbial community analysis using pyrosequencing. *Microbial Cell Factories*, 15(1).

<https://doi.org/10.1186/s12934-016-0466-y>

Li, L., Peng, X., Wang, X., & Wu, D. (2018). Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability. *Bioresource Technology*, 248, 20–28.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.012>

Lindorfer, H., Braun, R., & Kirchayr, R. (2006). Self-heating of anaerobic digesters using energy crops. *Water Science and Technology*, 53(8), 159–166.

<https://doi.org/10.2166/wst.2006.246>

Liu, S. (2017). Sustainability and Stability. En *Bioprocess Engineering* (pp. 871–947). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63783-3.00015-0>

Liu, Y., & Whitman, W. B. (2008). Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125, 171–189. <https://doi.org/10.1196/annals.1419.019>

Lo, H. M., Kurniawan, T. A., Sillanpää, M. E. T., Pai, T. Y., Chiang, C. F., Chao, K. P., Liu, M. H., Chuang, S. H., Banks, C. J., Wang, S. C., Lin, K. C., Lin, C. Y., Liu, W. F., Cheng, P. H., Chen, C. K., Chiu, H. Y., & Wu, H. Y. (2010).

Modeling biogas production from organic fraction of MSW co-digested with MSWI ashes in anaerobic bioreactors. *Bioresource Technology*, 101(16), 6329–6335. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.048>

Marchaim, U., & Krause, C. (1993). Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 43(3), 195–203.

[https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90031-6](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90031-6)

- Martí-Herrero, J., Alvarez, R., Cespedes, R., Rojas, M. R., Conde, V., Aliaga, L., Balboa, M., & Danov, S. (2015). Cow, sheep and llama manure at psychrophilic anaerobic co-digestion with low cost tubular digesters in cold climate and high altitude. *Bioresource Technology*, 181, 238–246.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.063>
- Martín-González, L., Font, X., & Vicent, T. (2013). Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes. *Biochemical Engineering Journal*, 76, 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.016>
- Mata-Alvarez, J., Llabrés, P., Cecchi, F., & Pavan, P. (1992). Anaerobic digestion of the Barcelona central food market organic wastes: Experimental study. *Bioresource Technology*, 39(1), 39–48. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(92\)90054-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(92)90054-2)
- Mexicana, N. (2013). NMX-AA-005-SCFI-2013. Análisis de agua - Medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. *Normas Mexicanas. Dirección General de Normas*.
- Miramontes-Martínez, L. R., Gómez-González, R., Botello-Alvarez, J. E., Escamilla-Alvarado, C., Albalade-Ramírez, A., & Rivas-García, P. (2020). Semi-continuous anaerobic co-digestion of vegetable waste and cow manure: A study of process stabilization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(3), 1117–1134. <https://doi.org/10.24275/rmiq/proc920>

- Möller, K. (2016). *Assessment of Alternative Phosphorus Fertilizers for Organic Farming: Chars, Ashes and Slags*.
- Monlau, F., Sambusiti, C., Ficara, E., Aboulkas, A., Barakat, A., & Carrère, H. (2015). New opportunities for agricultural digestate valorization: Current situation and perspectives. En *Energy and Environmental Science* (Vol. 8, Número 9, pp. 2600–2621). Royal Society of Chemistry.
<https://doi.org/10.1039/c5ee01633a>
- Nicholson, F., Taylor, M., Crooks, B., Knox, O., Walker, R., Misselbrook, T., Cardenass, L., Chadwick, D., Lewis, P., Else, M., Bhogal, A., Rollett, A., Williams, J., Newell Price, P., Chambers, B., Becvar, A., Wood, M., & Litterick, A. (2016). *Field experiments for quality digestate and compost in agriculture: Work Package 2 Report - Digestate Nitrogen Supply and Environmental Emissions*. <https://rune.une.edu.au/web/handle/1959.11/19309>
- Nielsen, H. B., & Angelidaki, I. (2008). Congestion of manure and industrial organic waste at centralized biogas plants: Process imbalances and limitations. *Water Science and Technology*, 58(7), 1521–1528.
<https://doi.org/10.2166/wst.2008.507>
- Norma Mexicana. (1980). NMX-F-068-1980. Alimentos. Determinación de proteínas. *Normas Mexicanas. Dirección General de Normas*.
- Norma Mexicana. (2001a). NMX-AA-034-SCFI-2001. *Normas Mexicanas. Dirección General de Normas*.

Norma Mexicana. (2001b). NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua.

Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. *Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.*

Pereira, E., Campos, C., & Moterani, F. (2009). Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 4(3), 157–168. <https://doi.org/10.4136/ambiente-agua.109>

Pereira, E. L., Campos, C. M. M., & Motteran, F. (2013). Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of Anaerobic Baffled Reactor (ABR) in series with Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor (UASB) in the treatment of pig farming wastewater. *Acta Scientiarum - Technology*, 35(3), 477–483. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v35i3.14069>

Pereira Lourenço, A. M., & Montenegro Campos, C. M. (2009). Hydrodynamic behavior of a lab-scale upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) operated with an adopted hydraulic retention time (HRT) of 12 hours. *Ciência e Agrotecnologia*, 33(4), 1139–1144. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542009000400027>

Pilarska, A. A., Pilarski, K., Wolna-Maruwka, A., Boniecki, P., & Zaborowicz, M. (2019). Use of Confectionery Waste in Biogas Production by the Anaerobic Digestion Process. *Molecules*, 24(1), 37.

<https://doi.org/10.3390/molecules24010037>

Pontoni, L., Panico, A., Salzano, E., Frunzo, L., Iodice, P., & Pirozzi, F. (2015).

Innovative Parameters to Control the Efficiency of Anaerobic Digestion Process. *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS*, 43.

<https://doi.org/10.3303/CET1543349>

Pullammanappallil, P. C., Chynoweth, D. P., Lyberatos, G., & Svoronos, S. A.

(2001). Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid. *Bioresource Technology*, 78(2), 165–169.

[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00187-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00187-5)

Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Lema, J. M., & Carballa, M. (2014). Influence

of transitional states on the microbial ecology of anaerobic digesters treating solid wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(5), 2015–2027.

<https://doi.org/10.1007/s00253-013-5378-8>

Ren, Y., Yu, M., Wu, C., Wang, Q., Gao, M., Huang, Q., & Liu, Y. (2018). A

comprehensive review on food waste anaerobic digestion: Research updates and tendencies. *Bioresource Technology*, 247, 1069–1076.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.109>

Ripley, L. E., Boyle, W. C., & Converse, J. C. (1986). Improved Alkalimetric

Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 58(5), 406–411.

<https://doi.org/10.2307/25042933>

Sánchez, E., Borja, R., Travieso, L., Martín, A., & Colmenarejo, M. F. (2005). Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. *Bioresource Technology*, 96(3), 335–344.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.04.003>

Santana, A. M. de, & Oliveira, R. A. de. (2005). Desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo em dois estágios tratando águas residuárias de suinocultura. *Engenharia Agrícola*, 25(3), 817–830.
<https://doi.org/10.1590/s0100-69162005000300029>

Scarlat, N., Dallemand, J.-F., & Fahl, F. (2018). Biogas: Developments and perspectives in Europe. *Renewable Energy*, 129, 457–472.
<https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2018.03.006>

Siegert, I., & Banks, C. (2005). The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, 40(11), 3412–3418.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.025>

Simeonov, I. (2015). Mathematical modeling and parameters estimation of anaerobic fermentation processes. *European Control Conference, ECC 1999 - Conference Proceedings*, 705–712. <https://doi.org/10.1007/s004490050690>

Slimane, K., Fathya, S., Assia, K., & Hamza, M. (2014). Influence of inoculums/substrate ratios (ISRs) on the mesophilic anaerobic digestion of

slaughterhouse waste in batch mode: Process stability and biogas production.

Energy Procedia, 50, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.06.007>

Søndergaard, M. M., Fotidis, I. A., Kovalovszki, A., & Angelidaki, I. (2015).

Anaerobic Co-digestion of Agricultural Byproducts with Manure for Enhanced Biogas Production. *Energy and Fuels*, 29(12), 8088–8094.

<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b02373>

Vasco-Correa, J., Khanal, S., Manandhar, A., & Shah, A. (2018). Anaerobic

digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies. En *Bioresource Technology* (Vol. 247, pp. 1015–1026). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>

Wang, L. H., Wang, Q., Cai, W., & Sun, X. (2012). Influence of mixing proportion on the solid-state anaerobic co-digestion of distiller's grains and food waste.

Biosystems Engineering, 112(2), 130–137.

<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.03.006>

Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., & Meng, L. (2009). Effects of volatile fatty acid

concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy*, 33(5), 848–853. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.01.007>

Wijekoon, K. C., Visvanathan, C., & Abeynayaka, A. (2011). Effect of organic

loading rate on VFA production, organic matter removal and microbial activity of a two-stage thermophilic anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource*

Technology, 102(9), 5353–5360.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.081>

Williams, J., Williams, H., Dinsdale, R., Guwy, A., & Esteves, S. (2013). Monitoring methanogenic population dynamics in a full-scale anaerobic digester to facilitate operational management. *Bioresource Technology*, 140, 234–242.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.089>

Wittebolle, L., Marzorati, M., Clement, L., Balloi, A., Daffonchio, D., Heylen, K., De Vos, P., Verstraete, W., & Boon, N. (2009). Initial community evenness favours functionality under selective stress. *Nature*, 458(7238), 623–626.

<https://doi.org/10.1038/nature07840>

Yeole, T. Y., Gokhale, S., Hajarnis, S. R., & Ranade, D. R. (1996). Effect of brackish water on biogas production from cattle dung and methanogens.

Bioresource Technology, 58(3), 323–325. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(96\)00119-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00119-8)

Zahedi, S., Dahunsi, S. O., Perez, M., & Solera, R. (2019). Assessment of Chemical Inhibitor Addition to Improve the Gas Production from Biowaste.

Waste and Biomass Valorization, 10(5), 1091–1099.

<https://doi.org/10.1007/s12649-017-0189-2>